

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2003 年 12 月 4 日 (04.12.2003)

PCT

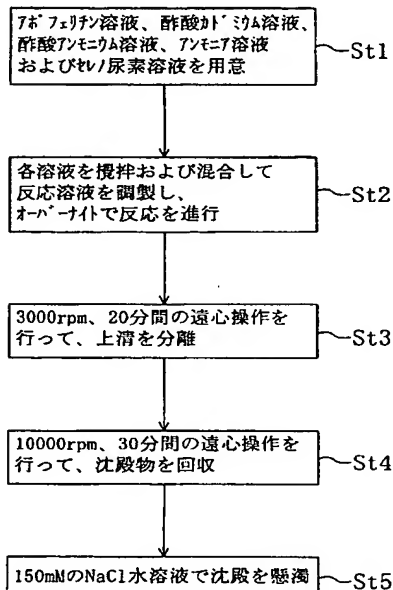
(10) 国際公開番号
WO 03/099708 A1

- (51) 国際特許分類⁷: B82B 3/00, H01L 21/8247, 27/115, 29/06, 29/788, 29/792
- (21) 国際出願番号: PCT/JP03/06637
- (22) 国際出願日: 2003 年 5 月 28 日 (28.05.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2002-154778 2002 年 5 月 28 日 (28.05.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 松下電器産業株式会社 (MATSUSHITA ELECTRIC INDUSTRIAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒571-8501 大阪府 門真市 大字門真1006番地 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 山下一郎 (YAMASHITA, Ichiro) [JP/JP]; 〒631-0003 奈良県 奈良市中登美ヶ丘 4-1-6-21 O Nara (JP).
- (74) 代理人: 角田 嘉宏, 外 (SUMIDA, Yoshihiro et al.); 〒650-0031 兵庫県 神戸市 中央区 東町 123番地の1 貿易ビル 3 階 有古特許事務所 Hyogo (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

[続葉有]

(54) Title: PROCESS FOR PRODUCING NANOPARTICLE AND NANOPARTICLE PRODUCED BY THE PROCESS

(54) 発明の名称: ナノ粒子の製造方法及び該製造方法によって製造されたナノ粒子



(57) Abstract: A process for producing nanoparticles, comprising the step of, in a solution containing a protein having internal hollow portion, such as apoferritin, ions of a Group II element, such as Cd or Zn, and ions of a Group VI element, such as S or Se, forming nanoparticles of a semiconductor of Group II-VI compound in the hollow portion of the protein. Preferably, the solution further contains ammonium ions, and the feeding of the Group VI element ions (X^{2-}) to the above solution is performed by adding H_2NCXNH_2 to the solution. This process enables producing semiconductor nanoparticles of uniform diameter.

(57) 要約: 本発明のナノ粒子の製造方法は、アポフェリチンに代表されるような内部に空洞部を有するタンパク質、CdおよびZnに代表されるII族元素イオンおよびSおよびSeに代表されるVI族元素イオンを含む溶液中で、該タンパク質の空洞部内にII族-VI族化合物半導体のナノ粒子を形成させる工程を含む。好ましくは、前記溶液が、さらにアンモニウムイオンを含み、前記VI族元素イオン (X^{2-}) の前記溶液中への供給が、 H_2NCXNH_2 が前記溶液中に添加されることによる。上記方法によって、粒径が均一な半導体ナノ粒子を製造することができる。

S1...PROVIDING APOFERRITIN SOLUTION, CADMIUM ACETATE SOLUTION, AMMONIUM ACETATE SOLUTION, AMMONIA SOLUTION AND SELENOUREA SOLUTION
S2...MIXING THE SOLUTIONS UNDER AGITATION TO THEREBY PREPARE REACTION MIXTURE AND PERFORMING REACTION OVERNIGHT
S3...CENTRIFUGING AT 3000 RPM FOR 20 MIN TO THEREBY SEPARATE SUPERNATANT
S4...CENTRIFUGING AT 10000 RPM FOR 30 MIN, AND RECOVERING PRECIPITATE
S5...SUSPENDING PRECIPITATE IN 150 MM AQ. NaCl SOLUTION

WO 03/099708 A1



(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 *PCT* ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

添付公開書類:

— 国際調査報告書

明 細 書

ナノ粒子の製造方法及び該製造方法によって製造されたナノ粒子

5 〔技術分野〕

本発明は、化合物半導体のナノ粒子の製造方法、該製造方法によって製造されたナノ粒子及び該製造方法の製造工程で生成されたナノ粒子とタンパク質からなる複合体に関する。

〔背景技術〕

- 10 これまでの機能材料開発の主流は、所望の機能を発現させる新規化合物の探索、合成によって行なわれている。しかしながら、近年は、物質をナノメートルサイズまでに微細化したナノ粒子を作製することで、バルク状態では得られない新機能を発現させることが望まれるようになっている。特に、半導体や金属化合物を中心とする無機材料
- 15 のナノ粒子化が強く望まれている。

- 半導体ナノ粒子は、エネルギー準位の量子化によりエネルギー準位が互いに離れた状態となり、かつそれらがナノ粒子の粒径の関数として制御されるようになる。よって、半導体ナノ粒子において、半導体結晶の基礎吸収の長波長側吸収端よりもわずかに低エネルギーに現
- 20 れる励起子吸収帯のピーク位置は半導体ナノ粒子の粒径を変えることで制御することができ、バルクとは異なる電磁波の吸収及び発生能を示すことから、発光材料や記憶材料としての使用が期待されている。

- 例えば、II 族-VI 族化合物半導体である CdSe、ZnSe は、蛍光を発することが知られているが、その蛍光波長は、粒子のサイズ
- 25 (粒径) によって異なる。このような半導体ナノ粒子の量子効果を工学的に利用するためには、粒径が均一なナノ粒子を作製することが必

要となる。

従来、ナノ粒子を作製する方法は、物理的粉碎法および化学的合成法などによって行なわれている。例えば、物理的粉碎法は、セラミックスを焼成する際の出発材料を得るために広く用いられている。また、
5 化学的合成法としては、長鎖の有機化合物の間に、塩化金酸を還元することによって金のナノ粒子を作製する方法などがある。ここで、長鎖の有機化合物は、金粒子が成長して巨大化することを阻害している。

また、有機化合物とナノ粒子との複合体を作り、化学反応させて均一な粒子を作る方法もある。この応用としては、SAM膜を形成するための材料に金原子を固定し、上記材料を金原子を中心にして集合させることによって、表面にSAM膜が形成された金のナノ粒子を得る方法もある。さらに、ナノ粒子を形成する材料を含むミセルをつくり、ミセル中での化学反応を用いてナノ粒子を作製することも行われている。

15 しかしながら、上述の従来の方法では粒径が均一なナノ粒子を得ることは難しい。例えば、物理的粉碎法では、そもそも粒径をミクロンサイズよりも小さくすることが困難であり、ナノメートルオーダーに近づいたとしても粒径を一定にするメカニズムがない。このため、得られるナノ粒子の粒径には必然的に大きなバラツキが生じる。また、
20 化学的合成法では、化学反応を利用しているため、これもまた得られるナノ粒子の粒径には必然的に大きなバラツキが生じる。また、所要時間、コストの面でも非常に不利である。

一方、バイオテクノロジーを他分野に応用する試みの一つとして、金属化合物を保持する機能を有するタンパク質であるアポフェリチンに金属または金属化合物を取り込ませ、ナノオーダーの均一なサイ
25 ズのナノ粒子を作製しようという研究がある。ナノ粒子の用途に応じ

て種々の金属あるいは金属化合物をアポフェリチンに導入すべく研究が進められている。

アポフェリチンは、生物界に広く存在するタンパク質であり、生体内では必須微量元素である鉄の量を調節する役割を担っている。鉄または鉄化合物とアポフェリチンとの複合体はフェリチンと呼ばれる。
5 鉄は必要以上に体内に存在すると生体にとって有害であるため、余剰の鉄分はフェリチンの形で体内に貯蔵される。そして、フェリチンは必要に応じて鉄イオンを放出し、アポフェリチンに戻る。

第1図は、アポフェリチンの構造を示す模式図である。第1図に示すように、アポフェリチン1は、1本のポリペプチド鎖から形成されるモノマーサブユニットが非共有結合により24個集合した分子量約46万の球状タンパク質であり、その直径は約12nmで、通常のタンパク質に比べ高い熱安定性と高いpH安定性を示す。アポフェリチン1の中心には直径約6nmの空洞状の保持部4があり、外部と保持部4とはチャンネル3を介してつながっている。例えば、アポフェリチン1に2価の鉄イオンが取り込まれる際、鉄イオンはチャンネル3から入り、一部のサブユニット内にある ferroxidase center (鉄酸化活性中心) と呼ばれる場所で酸化された後、保持部4に到達し、保持部4の内表面の負電荷領域で濃縮される。そして、鉄原子は3000
15 ~4000個集合し、フェリハイドライト ($5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) 結晶の形で保持部4に保持される。保持部4に保持された金属原子を含むナノ粒子の粒径は、保持部4の直径とほぼ等しく、約6nmとなっている。

このアポフェリチンを用いて、人工的に鉄以外の金属や金属化合物を保持させたナノ粒子ーアポフェリチン複合体も作製されている。
25

現在までに、マンガン (P. Mackle, 1993, J. Ame

r. Chem. Soc. 115, 8471-8472; F. C. Meldrumら, 1995, J. Inorg. Biochem. 58, 59-68)、ウラン (J. F. Hainfeld, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 11064-11068)、ベリリウム (D. J. Price, 1983, J. Biol. Chem. 258, 10873-10880)、アルミニウム (J. Fleming, 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 7866-7870)、亜鉛 (D. Price and J. G. Joshi, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1982, 79, 3116-3119)、コバルト (T. Douglas and V. T. Stark, Inorg. Chem., 39, 2000, 1828-1830) といった金属あるいは金属化合物のアポフェリチンへの導入が報告されている。これらの金属あるいは金属化合物からなるナノ粒子の粒径も、アポフェリチンの保持部4の直径とほぼ等しく、約6 nmとなる。

自然界において、鉄原子を含むナノ粒子がアポフェリチン内に形成される過程の概略は次の通りである。

アポフェリチン1の外部と内部とを結ぶチャネル3 (第1図参照)の表面には、pH 7~8の条件下でマイナス電荷を持つアミノ酸が露出しており、プラス電荷を持っている Fe^{2+} イオンは静電相互作用によりチャネル3に取り込まれる。

アポフェリチン1の保持部4の内表面には、チャネル3の内表面と同じく、pH 7~8でマイナス電荷を持つアミノ酸残基であるグルタミン酸残基が多く露出しており、チャネル3から取り込まれた Fe^{2+} イオンは ferroxidase center で酸化され、内部の保持部4へと導かれる。そして、静電相互作用により鉄イオンは濃縮されて、フェリハ

イドライト ($5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) 結晶の核形成が起こる。

その後、順次取り込まれる鉄イオンがこの結晶の核に付着して酸化鉄からなる核が成長し、粒径 6 nm のナノ粒子が保持部 4 内に形成される。以上が、鉄イオンの取り込みと酸化鉄からなるナノ粒子形成の概略である。

なお、ここまで鉄イオンのアポフェリチンへの取り込みメカニズム及び酸化鉄を内包したアポフェリチンの調製法について述べたが、これまでに導入が報告されている他の金属イオンについては、鉄イオンとほぼ同じメカニズムで進むと考えられる。

10 しかしながら、上述の方法によって空洞部内に取り込むことができるのは、特定の金属または金属化合物に限定されていた。

[発明の開示]

本発明は、上記従来の問題点を解決することを目的とするものであり、粒子径が均一な半導体ナノ粒子を得ることができるナノ粒子の製造方法を提供する。

15 本発明のナノ粒子の製造方法は、内部に空洞部を有するタンパク質および化合物半導体の原料となる元素のイオンを含む溶液中で、該タンパク質の空洞部内に前記化合物半導体のナノ粒子を形成させる工程を含む。

20 一つの実施形態では、タンパク質、II族元素イオン、およびVI族元素イオンを含む溶液中で、該タンパク質の空洞部内にII族-VI族化合物半導体のナノ粒子を形成させる工程を含む。尚、本明細書でいうII族元素とは、周期表第12族元素のことであり、具体的にはZnおよびCdを意味する。VI族元素とは、周期表第16族元素のことであり、25 具体的にはO、S、およびCeを意味する。

好ましくは、前記溶液が、前記II族元素イオンを中心金属とする錯

イオンを含む。好ましくは、前記タンパク質の空洞部内に、前記II族元素イオンを中心金属とする錯イオンが含まれている。

例えば、前記溶液が、さらにアンモニウムイオンを含む。そして、
例えば、前記II族元素イオンが中心金属であって、アンモニアが配位
5 子である錯イオンが前記溶液中に存在する。例えば、前記II族元素イオンが中心金属であって、アンモニアが配位子である錯イオンが前記タンパク質の空洞部内に存在する。

好ましくは、前記VI族元素イオン(X^{2-})の前記溶液中への供給は、
 $H_2N-C-X-NH_2$ が前記溶液中に添加されることによる。例えば、前記
10 X は、S eまたはSである。

例えば、前記II族元素が亜鉛(Z n)またはカドミウム(C d)であり、前記VI族元素がイオウ(S)またはセレン(S e)である。

例えば、前記ナノ粒子がC d S e、Z n S e、C d SおよびZ n S
からなる群から選択される少なくとも一つの化合物半導体から形成さ
15 れているものである。

例えば、前記タンパク質が、アポフェリチン、D p sタンパク質、C C M Vタンパク質またはT M Vタンパク質の少なくとも一つである。

また、前記ナノ粒子を形成した後、タンパク質を熱処理によって除去する工程をさらに含むものであってもよい。

20 また、本発明は、前記製造方法によって製造されたナノ粒子である。

また、本発明は、ナノ粒子とタンパク質からなる複合体であって、前記ナノ粒子の製造方法の製造過程で生成された複合体である。前記タンパク質は、特定のタンパク質に特異的に結合する部分を備えているものであってもよい。

25 [図面の簡単な説明]

第1図は、アポフェリチンの構造を示す模式図である。

第2図は、半導体ナノ粒子の製造方法を表すフローチャートである。

第3図は、第2図に示すステップS t 1およびステップS t 2を表す模式図である。

5 第4図は、第2図に示すステップS t 2において起こっていると思われる反応を表す模式図である。

第5図(a)～(c)は、ナノ粒子の形成状態を表す電子顕微鏡写真である。

第6図(a)および(b)は、異なる粒径の半導体ナノ粒子を細胞のアクチンフィラメントと核とにそれぞれ結合させた状態を表す模式図である。

第7図(a)および(b)は、抗体を利用して半導体ナノ粒子ータンパク質複合体でタンパク質をラベルする方法を表す模式図である。

第8図(a)～(d)は、不揮発性メモリセルの製造方法を示す工程断面図である。

15 第9図は、ドット体を基板の表面上に2次元状に配列および固定する方法を示す工程断面図である。

第10図は、複合体を基板の表面上に2次元状に配列および固定する方法について説明する図である。

[発明を実施するための最良の形態]

20 以下、本発明の実施形態について図面を参照しながら説明する。

(実施形態1)

本実施形態では、均一な粒径のCdSeからなる半導体ナノ粒子を作製するために、Cd²⁺とSe²⁻とをタンパク質の直径数ナノメートルの空洞内で反応させる。タンパク質としては、以下に示す条件を満たすものを用いることができる。

25 まず第1に、一定の大きさの空洞を内部に有する。

第2に、空洞の表面がプラスまたはマイナス電荷を有し、且つ外部に対して電位差を有する。

第3に、空洞と外部とを結ぶチャンネルが存在する。

第4に、チャンネルは、イオンが通過可能な大きさを有し、イオンの
5 通過を妨げる障害を持たない。

第5に、ナノ粒子を作製するための化学反応条件下で、十分安定である。

上記第1から第5までの条件を満たすタンパク質であれば、単一のサブユニットから構成されているタンパク質であっても、複数のサブ
10 ユニットから構成されているタンパク質であっても良い。また、タンパク質は、その空洞部の形状が球状のものに限定されることはなく、ロッド状、リング状等の空洞部を有するものであっても良い。上記第1から第5までの条件を満たすタンパク質は多数存在し、代表的なタンパク質として、アポフェリチン、Dpsタンパク質、ならびにウイル
15 スタンパク質などが挙げられる。ウイルスタンパク質としては、例えば、CPMV、CCMV、HSV、Rotavirus、Reovirus、LA-1、Polyoma、CaMV、HPV、Ross River、SpV-4、φX174、FHV、HRV-14、Polio等のウイルスのタンパク質が挙げられる。好ましくは、CPMV、CCMVのウイルスタンパク質を用いることができる。本実施形
20 態の方法によると、使用するタンパク質の空洞部の形状、大きさに応じたナノ粒子が形成されることになる。本明細書におけるナノ粒子とは、長径50nm以下であって、粒子として安定に存在する大きさ以上の粒子をいう。一例を挙げるのであれば、長径1nm～50nmの
25 粒子がナノ粒子に該当する。

タンパク質はDNA情報から作製され、公知の方法で多数複製する

ことが容易である。また、同じDNAから多数複製されたタンパク質が、オングストロームの精度で同じ構造であることは周知である。したがって、上記第1の条件を満たすタンパク質を調製することは容易である。

- 5 本実施形態では、金属または金属化合物を保持する機能を有するタンパク質であるアポフェリチンを利用する。

次に、アポフェリチンを用いてCdSeからなる半導体ナノ粒子を内包したタンパク質からなる複合体（以下、CdSe-アポフェリチン複合体ともいう）を作製する方法を、第2図を参照しながら具体的に説明する。第2図は、本実施形態の半導体ナノ粒子の製造方法を表すフローチャートである。なお、以下に示す本実施形態の方法の全ての工程は、室温にて200mlスケールで実施される。また、特に記載のない限り、ここで用いる用語「溶液」は、溶媒として水を用いた溶液を意味する。

10

- 15 まず、第2図に示すように、ステップSt1において、50mg/mlのアポフェリチン溶液、100mMの酢酸カドミウム溶液、1Mの酢酸アンモニウム溶液、100mMのアンモニア水を用意する。また、少量のエタノール（10μl程度）にセレノ尿素（ $\text{H}_2\text{NCSeNH}_2$ ）を溶解させ、これを100mM濃度になるように純水を加えて100mMのセレノ尿素溶液を用意する。なお、セレノ尿素は水に溶解すると不安定であるので、次に述べる工程の直前にセレノ尿素溶液を調製する。
- 20

次に、ステップSt2において、上記ステップSt1で用意した各溶液を混合し、全体の容量が200mlになるまで純水を加えることによって、反応溶液を調製する。上記の反応溶液におけるアポフェリチン、酢酸カドミウム、酢酸アンモニウム、セレノ尿素およびアンモ

25

ニアの各濃度は、第3図に示す通りとなっている。なお、第3図は、ステップS t 1およびステップS t 2を表す模式図である。

つづいて、第3図に示すように、反応溶液を攪拌しながら反応を進行させる。上記反応溶液では、調製した直後から反応が自発的に開始する。本実施形態では、さらに反応溶液の攪拌を一昼夜に亘って行なう。ここで生じる反応は急速ではないが、数分から数時間で完結する。この操作により、アポフェリチンの保持部内にCdSeが導入され、CdSe-アポフェリチン複合体（以下、単に複合体とも称す）が生成される。

次に、ステップS t 3において、反応溶液を容器に入れ、遠心分離機を用いて毎分3000回転、20分の条件で遠心分離し、沈殿を除去する。このとき、上澄み液中には、複合体が分散された状態で存在している。

次に、ステップS t 4において、沈殿を除去した後の上澄み液をさらに毎分10000回転、30分の条件で遠心分離し、複合体を沈殿させる。

次に、ステップS t 5において、上記ステップS t 4で得られた沈殿を150mMのNaCl溶液に懸濁し、複合体溶液を作製する。ここでは、特にpH調整を行わなくてもよい。

以上のようにして、CdSeからなる半導体ナノ粒子を内包するアポフェリチン、すなわちCdSe-アポフェリチン複合体が得られる。

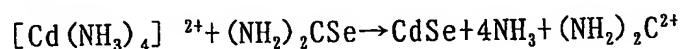
ここで、上記ステップS t 2においてCdSe-アポフェリチン複合体が形成されるメカニズムを推測して、第4図を参照しながら説明する。第4図は、CdSe-アポフェリチン複合体が形成されるメカニズムを説明するための模式図である。なお、第4図では、理解を容易にするために、第1図に示すアポフェリチンをさらに単純化して示

している。このため、第4図においても、第1図と共通の参照符号を用いている。

上記ステップ2において、反応溶液中で起こっていると推測される反応は、次に示す反応式1で表される。

5

反応式1



第4図に示すように、上記反応溶液の条件では、アンモニウムイオン (NH_4^+) が多数存在する条件となっている。このため、カドミウムイオン (Cd^{2+}) の大半は、錯イオンである $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ となって安定化する。従って、 $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ の濃度と Cd^{2+} の濃度との関係は、「 $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ の濃度 \gg Cd^{2+} の濃度」となっている。

15 アポフェリチン1の保持部4の表面は、マイナス電荷に帯電しているため、 $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ は、矢印Aに示すようにチャネル3を通過して保持部4内に導入される。この結果、 $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ が保持部4内で高濃度に濃縮される。

セレノ尿素は電荷を持たないため、アポフェリチン1の保持部4内
20 と外部とで均等に存在する。セレノ尿素は、室温で水に溶解すると、ゆっくりではあるが直ちに分解を始める。全ての分解には数時間かかり、 Se^{2-} が発生する。

アポフェリチン1の保持部4内で発生した Se^{2-} は、高濃度に濃縮された $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ から供給される Cd^{2+} が存在するため、直ち
25 に反応して CdSe が析出し、結晶化する。

Cd^{2+} および Se^{2-} は、 CdSe になると水に不溶性であるため可逆

的にイオン化することはない。このため、アポフェリチン1の保持部4内では、溶液中の $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ およびセレノ尿素の濃度が低下する。従って、アポフェリチン1の保持部4内と外部とで濃度勾配が生じ、外部に存在する $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ およびセレノ尿素が、矢印AおよびBに示すように、チャンネル3を通過してアポフェリチン1の保持部4内に導入される。アポフェリチン1の保持部4内では、 $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ およびセレノ尿素からの Cd^{2+} および Se^{2-} の供給が終わるまで、 CdSe の生成反応が繰り返される。

一方、アポフェリチン1の外部では、反応開始時点から Cd^{2+} が非常に少ないので、発生した Se^{2-} が Cd^{2+} と反応する速度は非常に遅い。従って、アポフェリチン1の外部では、 CdSe がほとんど生成しない。すなわち、アポフェリチン1の空洞部内で優先的に各イオンを反応させることができる。

なお、セレノ尿素は反応の直前に水に溶解させているが、水中ではセレノ尿素は不安定で、その結果反応溶液を調製すると同時にセレノ尿素のセレン原子が電離し、反応溶液中に Se^{2-} が供給されと考えられる。このため、本実施形態では、アポフェリチン1の保持部4内で Se^{2-} が不足しないように、 Se^{2-} が Cd^{2+} の5倍量となるように、セレノ尿素を過剰に添加している。

ここで、本実施形態のステップSt1において、アンモニアの添加量を変えて、 CdSe のナノ粒子を形成させ、ステップSt2の直後に反応溶液を電子顕微鏡で観察した様子を第5図(a)～(c)に示す。第5図(a)～(c)は、反応溶液に添加するアンモニア水を調節し、反応溶液中でのアンモニア(NH_3)の濃度をそれぞれ0 mM、0.5 mMおよび1.0 mMとしたときのナノ粒子の形成状態を表す電子顕微鏡写真である。なお、酢酸アンモニウムから解離するアンモ

ニアはごく微量であり、ここで示すアンモニアの濃度にはほとんど影響しないと考えられる。CdSeの半導体ナノ粒子は、代表的には、第5図(a)、(b)および(c)中の白抜きの矢印で示されている。

第5図(a)～(c)に示すように、CdSeの半導体ナノ粒子の形成は、アンモニアの濃度に依存しており、アンモニアの濃度が0.5 mMである場合にナノ粒子の形成が最も良好である。

第5図(a)に示す反応溶液はpH 6.6であり、第5図(b)に示す反応溶液はpH 7.4であり、第5図(c)に示す反応溶液はpH 7.9である。従って、アンモニアは、Cd²⁺に配位して安定化すると同時に、緩衝剤の入っていない反応溶液を高pHに保ち、CdSeが析出しやすくする働きもあると考えられる。このため、反応溶液のpHは、pH 7.0以上9.5以下の範囲内に保つことが好ましい。なお、アンモニアを表1の混合率で20000まで上げてても同様の効果は得られる。

以上のような反応機構が想定されることから、それぞれの化学物質の混合比率は、アポフェリチンの分子数を1として、表1に示す範囲内の分子数であることが望ましいと考えられる。

表1

分子	混合比率 (分子数比)
アポフェリチン	1
酢酸カドミウム	100～10000
酢酸アンモニウム	5000～500000
セレノ尿素	500～50000
アンモニア	10～20000

以上に述べた製造方法によって、アポフェリチン内に優先的にCdSeからなる半導体ナノ粒子を形成することができる。

アポフェリチンを含めて、タンパク質はDNA情報から作製され、公知の方法で多数複製することは容易である。また、同じDNAから多数複製されたタンパク質が、オングストロームの精度で同じ構造であることは周知である。このため、本実施形態で用いるアポフェリチンが有する空洞状の保持部は、全て同じ形状である。

従って、本実施形態のように、タンパク質の内部で化学反応によって半導体ナノ粒子を作製すれば、半導体ナノ粒子の粒径がタンパク質により規定されるので、粒径が均一な半導体ナノ粒子が得られる。反応溶液を図3に示すものとなるようにした本実施形態において得られたCdSeナノ粒子は、球状であり、その直径は、6nm（標準偏差1nm）であった。すなわち、均一な粒径のナノ粒子が得られたといえる。

なお、本実施形態ではタンパク質としてアポフェリチンを用いたが、アポフェリチンの代わりにDpsタンパク質（直径9nmであり、内部に直径4nmの保持部を有する球殻状タンパク質）を用いれば、粒径が4nmの半導体ナノ粒子を作製することができる。さらに、アポフェリチンの代わりにCCMVおよびTMV等のウイルスタンパク質などを用いても、それぞれのタンパク質が有する内部の保持部の形状に応じた半導体ナノ粒子を作製することができる。

また、本実施形態では、CdSeからなる半導体ナノ粒子を作製する場合について説明したが、他のII族-VI族化合物半導体、例えばZnSe、CdSおよびZnS等からなる半導体ナノ粒子を作製する場合にも、本実施形態とほぼ同じ方法を適用することができる。

例えば、ZnSeからなる半導体ナノ粒子を作製する場合、本実施

形態で用いた酢酸カドミウム溶液の代わりに、酢酸亜鉛溶液を反応溶液中に混合する。他の条件は、本実施形態に述べた通りである。

また、CdSからなる半導体ナノ粒子を作製する場合、本実施形態で用いたセレン尿素溶液の代わりに、チオ尿素 (H_2NCSNH_2) 溶液を反応溶液中に混合する。他の条件は、本実施形態に述べた通りである。

ZnSからなる半導体ナノ粒子を作製する場合、酢酸カドミウム溶液の代わりに酢酸亜鉛溶液を、セレン尿素溶液の代わりにチオ尿素溶液を反応溶液中に混合する。他の条件は、本実施形態に述べた通りである。

尚、II 族-VI 族化合物半導体は、直接遷移のワイドバンドギャップ半導体であり、ナノ粒子としての特性に加えてかかる特性をも利用でき、さまざまな用途に有用である。

以下の実施形態では、本実施形態において作製されたナノ粒子およびナノ粒子-タンパク質複合体の利用例を説明する。

(実施形態 2)

CdSe、ZnSe、CdS および ZnS 等からなる半導体ナノ粒子は、内部の電子順位が量子化されており、蛍光波長がその粒径で変化することが示されている。そこで、第 6 図 (a) および (b) に示すように、異なる粒径の半導体ナノ粒子を細胞のアクチンフィラメントと核とにそれぞれ結合させておき、単一の波長で励起することによって、異なる蛍光色を発現させ、簡単に細胞中の 2 つのタンパク質の移動や位置を観察する方法が報告されている (R. F. Service, Science, 281 巻、1998 年、1930~1931 ページ、M. Bruchez Jr. ら、Science, 281 巻、1998 年、2013~2016 ページ、および W. C. W. Chan ら、

Science、281巻、1998年、2016～2018ページ）。

これまで細胞などの蛍光観察にはローダミンなどの蛍光染色剤が
用いられていた。しかし、ローダミンなどの蛍光染色剤は蛍光そのも
のが弱く、しかも数秒でクエンチングと呼ばれる蛍光退色が起こり発
5 光しなくなる。また、ローダミンなどの蛍光染色剤では、蛍光が赤方
（長波長側）への伸び（レッドテイリングと呼ばれる）、他の蛍光染
色剤の蛍光領域まで進入して、クロストークが発生する。さらに、蛍
光を観察するために照射する励起光波長と、蛍光染色剤からの蛍光波
10 長との差が数十nm程度であるため、急峻な波長フィルターが必要で
ある。このため、蛍光染色剤の数だけ励起光装置と波長フィルターと
が必要となって蛍光観察装置（例えば、蛍光顕微鏡）の構成が複雑と
なる。蛍光観察装置の構成が複雑になると、光量の確保が難しくなり、
明るいレンズが必要となる。従って、蛍光観察装置の設計が難しくな
り、蛍光観察装置の値段もきわめて高価となる。

15 しかし、上記の報告で説明されている、異なる粒径のCdSeから
なるナノ粒子を用いた蛍光観察では、励起光として蛍光波長から離れ
た短波長側の1つ波長の光（例えば紫外線）を用いればよい。蛍光の
色は、CdSeからなるナノ粒子の粒径で決まるので、レッドテイリ
ングが無く、フィルターも不要となり、蛍光観察装置の構成が簡単に
20 なる。従って、光量の確保が容易になり、簡単で安価な蛍光顕微鏡を
用いても、鮮明な蛍光観察が可能になる。

つまり、数種類の粒径毎に、粒径が均一なCdSeの半導体ナノ粒
子を得られれば、きわめて安価に細胞内のタンパク質をラベルして蛍
光観察することができるようになる。

25 しかしながら、従来の物理的粉碎法や化学合成法などでは、作製さ
れたCdSeおよびZnSeの半導体ナノ粒子の粒径が一定でなく、

様々な蛍光波長の粒子が混在してしまう。従って、従来の物理的粉砕法や化学合成法などで作製された半導体ナノ粒子を蛍光ラベル用として、そのまま使用できない。このため、上記の報告では、CdSeおよびZnSeの半導体ナノ粒子を蛍光ラベル材料として使用する
5 ために、ナノメートルオーダーの粒径によって分離する精密な精製工程が必要となっている。従って、半導体ナノ粒子の量産性が非常に低く、蛍光観察するためのコストも非常に高い。

また、従来の方法による半導体ナノ粒子の作製時には、半導体ナノ粒子の表面が被覆されていないので、分散および凝集を制御することが
10 難しい。これを回避するために、上記の報告では、半導体ナノ粒子の表面を有機材料でコーティングすることが提案されている。しかしながら、半導体ナノ粒子の表面を有機材料でコーティングするための工程が更に追加されるので、更に半導体ナノ粒子の量産性が低く、蛍光観察するための製造コストも非常に高くなる。

一方、上記実施形態1で得られる半導体ナノ粒子は、粒径が均一である。従って、半導体ナノ粒子を保持する保持部の直径が異なる数種類のタンパク質を用いれば、数種類の粒径毎に、粒径が均一であるCdSeの半導体ナノ粒子が容易に得られ、半導体ナノ粒子を粒径によって分離する精密な精製工程が不要となる。従って、きわめて安価に
15 細胞内のタンパク質をラベルして蛍光観察することができるようになる。

さらに、上記実施形態1で得られる半導体ナノ粒子-タンパク質複合体では、タンパク質の表面にはアミノ酸残基が露出している。表面に露出しているアミノ酸残基は、組み換えなどの遺伝子工学的な手法
25 で改変することが可能である。このことによって、半導体ナノ粒子-タンパク質複合体の表面の任意の位置に、正や負の電荷を帯びさせる、

あるいは疎水性または親水性を付与することが可能となる。従って、半導体ナノ粒子の表面を有機材料等でコーティングすることなく、半導体ナノ粒子の分散および凝集を制御することができる。

また、半導体ナノ粒子-タンパク質複合体において、タンパク質の一部のアミノ酸を化学修飾することによって、他のタンパク質と相互作用させることができる。具体的には、第7図を参照しながら説明する。第7図(a)および(b)は、抗体を利用して半導体ナノ粒子-タンパク質複合体でタンパク質をラベルする方法を表す模式図である。

10 半導体ナノ粒子-タンパク質複合体C1は、第7図(a)に示すように、Dpsタンパク質11とCdSeの半導体ナノ粒子14aとからなる複合体である。Dpsタンパク質11の表面には、タンパク質Xを特異的に認識する抗体Ixのうちの、タンパク質Xに結合しない側の末端(H鎖のC末端)が結合されている。

15 半導体ナノ粒子-タンパク質複合体C2は、第7図(b)に示すように、アポフェリチン1とCdSeの半導体ナノ粒子4aとからなる複合体である。アポフェリチン1の表面には、タンパク質Yを特異的に認識する抗体Iyのうちの、タンパク質Yに結合しない側の末端(H鎖のC末端)が結合されている。

20 つまり、半導体ナノ粒子-タンパク質複合体C1およびC2は、2種類の異なる粒径毎に、粒径が均一なCdSeの半導体ナノ粒子を内包している。また、半導体ナノ粒子-タンパク質複合体C1は、タンパク質Xに特異的に結合し、半導体ナノ粒子-タンパク質複合体C2は、タンパク質Yに特異的に結合する。従って、単一の波長の励起光
25 (例えば紫外線)を照射することによって、タンパク質XおよびY毎に異なる蛍光色を発現させ、簡単に細胞中の2つのタンパク質の移動

や位置を観察することができる。

- 以上に述べたように、上記実施形態 1 で得られる半導体ナノ粒子ータンパク質複合体は、半導体ナノ粒子がタンパク質で覆われる構成となっているので、タンパク質を改変することによって、蛍光を利用した生体の観察に利用することが容易である。

なお、本実施形態では、蛍光材料として CdSe の半導体ナノ粒子を用いた例を説明をしたが、その他の蛍光材料 (ZnSe、CdS および ZnS 等) を用いても、当然同じ効果が得られる。

(実施形態 3)

- 本実施形態では、上記実施形態 1 において作製されたナノ粒子ータンパク質複合体を利用して形成されるドット体をフローティングゲートとして含む不揮発メモリセルについて説明する。

第 8 図 (a) ~ 第 8 図 (d) は、本実施形態の不揮発性メモリセルの製造方法を示す工程断面図である。

- まず、第 8 図 (a) に示す工程で、p 型 Si 基板 101 上に、LOCOS 法により、活性領域を取り囲む素子分離酸化膜 102 を形成した後、基板上にトンネル絶縁膜として機能するゲート酸化膜 103 を熱酸化法によって形成する。その後、6 nm 程度の粒径を有するナノ粒子からなるドット体 104 を基板上に形成する。なお、ドット体 104 を基板上に形成する方法については、後述する。

次に、第 8 図 (b) に示す工程で、基板上に、スパッタ法または CVD 法により、ドット体 104 を埋める SiO₂ 膜を堆積する。

- 次に、第 8 図 (c) に示す工程で、基板上に Al 膜を堆積する。つづいて、フォトリソマスク Pr1 を用いて、SiO₂ 膜および Al 膜のパターニングを行なって電極間絶縁膜となるシリコン酸化膜 105 及び制御ゲート電極となる Al 電極 106 を形成する。このと

き、ゲート酸化膜 103 のうちフォトレジストマスク Pr 1 で覆われていない部分は除去されるので、その上のドット体 104 も同時に除去される。その後、フォトレジストマスクおよび Al 電極 106 をマスクとして不純物イオンの注入を行なって、第 1、第 2 n 型拡散層 107 a、107 b を形成する。

その後、第 8 図 (d) に示す工程で、周知の方法により、層間絶縁膜 108 の形成と、層間絶縁膜 108 へのコンタクトホール 109 の開口と、コンタクトホール 109 内へのタングステンの埋め込みによるタングステンプラグ 110 の形成と、第 1、第 2 アルミニウム配線 111 a、111 b の形成とを行なう。

本実施形態では、基板として p 型 Si 基板を用いたが、n 型 Si 基板を用いてもよく、さらに、GaAs をはじめとする化合物半導体その他の半導体により構成される基板を用いてもよい。

次に、第 8 図 (a) に示す工程において、ドット体 104 を基板上に形成する方法を、第 9 図および第 10 図を参照しながら以下に説明する。なお、ドット体 104 を基板上に形成する方法は、以下に説明する方法には限定されず、他の公知の方法を適用することも可能である。

まず、第 9 図 (a) に示す工程で、上記実施形態 1 で得られたナノ粒子-タンパク質複合体 (以下、複合体と略す) 150 を用意し、この複合体 150 を基板 130 の表面上に配置する。このことによって、複合体 150 が基板 130 の表面上に高密度、且つ高精度で配置された複合体膜が形成される。なお、基板 130 とは、第 8 図 (a) に示す工程で、p 型 Si 基板 101 上に、LOCOS 法により、活性領域を取り囲む素子分離酸化膜 102 を形成した後、基板上にトンネル絶縁膜として機能するゲート酸化膜 103 が熱酸化法によって形成さ

れたものを指す。以下の説明においても同様である。

次に、第9図(b)に示す工程で、複合体150のうちのタンパク質140を除去して、ナノ粒子104aのみを残存させることによって、基板130上にドット体104を形成する。

5 ここで、第9図(a)に示す工程において、複合体150を基板130の表面上に高密度、且つ高精度で配置する、すなわち、基板130の表面上に2次元状に配列および固定する方法について説明する。本実施形態では、以下に、特開平11-45990号公報に記載の方法を第10図を参照しながら説明する。

10 まず、第10図(a)に示すように、複合体150を分散した液体160を用意する。本実施形態では、液体160として、20mMのNaCl溶液と20mMのMES緩衝溶液との混合液(pH5.8)にナノ粒子-タンパク質複合体を分散した液体を用いる。なお、MESとは2-モルホリノエタンスルホン酸を意味する。

15 つづいて、第10図(b)に示すように、PBLH(Poly-L-Benzyl-L-Histidine)を注射器などで静かに液体160の表面に展開する。このことによって、液体160の表面にPBLHからなるポリペプチド膜170が形成される。この後、液体160のpHを調節しておく。

20 次に、第10図(c)に示すように、時間の経過に伴って複合体150がポリペプチド膜170に付着し、複合体150の2次元結晶ができる。これは、ポリペプチド膜170が正電荷を帯びているのに対し、複合体150は負電荷を帯びているからである。

25 次に、第10図(d)に示すように、ポリペプチド膜170上に基板130を載置して(浮かべて)、ポリペプチド膜170を基板130に付着させる。

次に、第10図(e)に示すように、基板130を取り出せば、ポリペプチド膜170を介して、複合体150の2次元結晶が付着した基板130を得ることができる。

次に、第9図(b)に示す工程をさらに詳細に説明する。

- 5 タンパク質は一般に熱に弱いため、複合体150のうちのタンパク質140の除去は、熱処理によって行なう。例えば、窒素等の不活性ガス中において、400～500℃にて、約1時間静置すると、タンパク質140およびポリペプチド膜170が焼失し、基板130上にはナノ粒子104aが2次元状に、高密度で、且つ高精度で規則正しく配列したドット体104として残存する。
- 10

以上のようにして、第9図(b)に示すように、複合体150に保持させたナノ粒子104aを、基板130上に2次元状に出現させ、高密度且つ高精度に配列したドット体104を形成することができる。

- 15 第8図(d)に示すように、本実施形態のメモリセル100は、制御ゲートとして機能するA1電極106と、ソースまたはドレインとして機能する第1、第2n型拡散層107a、107bとからなるMOSトランジスタ(メモリセルトランジスタ)を備え、フローティングゲートとして機能するドット体104に蓄えられた電荷の量で上記メモリトランジスタの閾値電圧が変化することを利用した不揮発性メモリセルである。
- 20

- この不揮発性メモリセルは、二値を記憶するメモリとしての機能が得られるが、ドット体104に蓄えられる電荷の有無のみだけでなく電荷の蓄積量を制御することで、三値以上の多値メモリを実現することもできる。
- 25

データの消去の際には、酸化膜を介したFN(Fowler-Nordheim)

電流や直接トンネリング電流を利用する。

また、データの書き込みには、酸化膜を介したFN電流や直接トンネリング電流あるいはチャネルホットエレクトロン（CHE）注入を用いる。

- 5 本実施形態の不揮発性メモリセルでは、フローティングゲートが量子ドットとして機能できる程度に粒径の小さいナノ粒子により構成されているので、電荷の蓄積量がわずかである。したがって、書き込み、消去の際の電流量を小さくでき、低消費電力の不揮発性メモリセルを構成することができる。

- 10 また、本実施形態の不揮発性メモリセルでは、フローティングゲートを構成するナノ粒子の粒径が均一であるため、電荷の注入、引き抜きの際の特性が各ナノ粒子間で揃っており、これらの操作において制御が容易に行なえる。

- 15 上記のメモリセルの製造において、第8図（b）に示す工程で、ドット体104を埋め込むようにSiO₂膜105を堆積する際には、スパッタ法が用いられることが多い。

- 20 これまでにアポフェリチンを用いて得られている鉄、コバルト等のナノ粒子はアポフェリチンの内部では酸化物として存在する。このため、鉄、コバルト等のナノ粒子を利用してドット体を形成する場合、第8図（b）に示す工程においてナノ粒子を電荷保持特性を有するドット体とするためには、ナノ粒子を還元する必要がある。

- 25 しかしながら、本実施形態で用いる、上記実施形態1によって得られるCdSe、ZnSe、CdS、ZnS、FePtおよびCoPt等からなるナノ粒子は、還元しなくとも電気保持特性を備えている。このため、ナノ粒子の還元工程を行なう必要がなくなる。従って、ドット体形成の際のコストを下げる事が可能になる。

(その他の実施形態)

上記実施形態3で示したように、本発明によれば、ナノ粒子を基板上にナノメートルスケールで集積することも可能である。従って、例えば、蛍光を生じる半導体ナノ粒子間における光エネルギーの授受を利用する演算素子を作製することも可能であると考えられる。

本発明によれば、粒径が均一な半導体ナノ粒子が得られる。粒径が均一な半導体ナノ粒子に、励起光を照射すると、特定の波長の蛍光を放出する。

また、FePtおよびCoPtからなるナノ粒子を作製する場合にも、実施形態1とほぼ同じ方法を適用することができる。

FePtからなるナノ粒子を作製する場合、実施形態1で用いた酢酸カドミウム溶液の代わりに硫酸アンモニウム鉄溶液を、セレノ尿素溶液の代わりに K_2PtCl_4 溶液を反応溶液中に混合する。他の条件は、実施形態1に述べた通りである。

CoPtからなるナノ粒子を作製する場合、具体的には、実施形態1で用いた酢酸カドミウム溶液の代わりに酢酸コバルト溶液を、セレノ尿素溶液の代わりに K_2PtCl_4 溶液を反応溶液中に混合する。他の条件は、実施形態1に述べた通りである。

[産業上の利用可能性]

本発明の半導体ナノ粒子は、粒径が均一であるため、その特性を利用して種々の発光材料、記憶材料に利用可能である。例えば、ケミカルセンシング、DNAのシーケンシング、ハイスループットスクリーニング、蛍光偏光イノムアッセイ、時間ゲートイノムアッセイ、時間分解イノムアッセイ、酵素結合免疫吸着検査(ELISA)アッセイ、濾過試験、及び標的化タギングなどに利用可能である。また、本発明の半導体ナノ粒子を、ポリマー等とブレンドして薄膜状とし、ディスプレイ

プレイパネル、発光ダイオード、光ディスクの超解像膜、光導波路等に用いることも可能である。

請 求 の 範 囲

1. 内部に空洞部を有するタンパク質および化合物半導体の原料となる元素のイオンを含む溶液中で、該タンパク質の空洞部内に前記化合物半導体のナノ粒子を形成させる工程を含む、ナノ粒子の製造方法。
5
2. タンパク質、II族元素イオン、およびVI族元素イオンを含む溶液中で、該タンパク質の空洞部内にII族－VI族化合物半導体のナノ粒子を形成させる工程を含む、請求の範囲第1項に記載のナノ粒子の製造方法。
10
3. 前記溶液が、さらにアンモニウムイオンを含む、請求の範囲第2項に記載のナノ粒子の製造方法。
- 15 4. 前記溶液が、前記II族元素イオンを中心金属とする錯イオンを含む、請求の範囲第2項に記載のナノ粒子の製造方法。
5. 前記タンパク質の空洞部内に、前記II族元素イオンを中心金属とする錯イオンが含まれている、請求の範囲第2項に記載のナノ粒子の製造方法。
20
6. 前記II族元素イオンが中心金属であって、アンモニアが配位子である錯イオンが前記溶液中に存在する、請求の範囲第3項に記載のナノ粒子の製造方法。
25
7. 前記II族元素イオンが中心金属であって、アンモニアが配位子で

ある錯イオンが前記タンパク質の空洞部内に存在する、請求の範囲第3項に記載のナノ粒子の製造方法。

5 8. 前記VI族元素イオン (X^{2-}) の前記溶液中への供給は、 H_2NCXNH_2 が前記溶液中に添加されることによる、請求の範囲第2項に記載のナノ粒子の製造方法。

9. 前記XがSeである、請求の範囲第8項に記載のナノ粒子の製造方法。

10

10. 前記XがSである、請求の範囲第8項に記載のナノ粒子の製造方法。

11. 前記II族元素が亜鉛 (Zn) またはカドミウム (Cd) であり、
15 前記VI族元素がイオウ (S) またはセレン (Se) である、請求の範囲第2項に記載のナノ粒子の製造方法。

12. 前記ナノ粒子がCdSe、ZnSe、CdSおよびZnSからなる群から選択される少なくとも一つの化合物半導体から形成されている、請求の範囲第2項に記載のナノ粒子の製造方法。
20

13. 前記タンパク質が、アポフェリチン、Dpsタンパク質、CCMVタンパク質またはTMVタンパク質の少なくとも一つである、請求の範囲第1項に記載のナノ粒子の製造方法。

25

14. 前記ナノ粒子を形成した後、タンパク質を熱処理によって除去

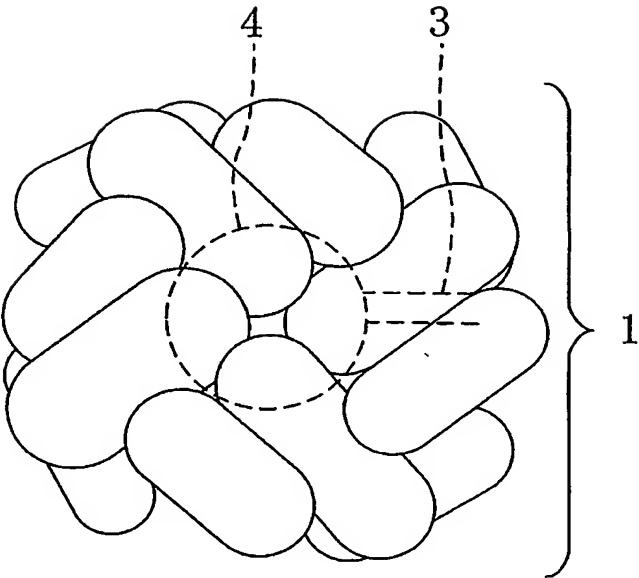
する工程をさらに含む、請求の範囲第 1 項に記載のナノ粒子の製造方法。

1 5. 請求の範囲第 1 項に記載の製造方法によって製造されたナノ粒子。

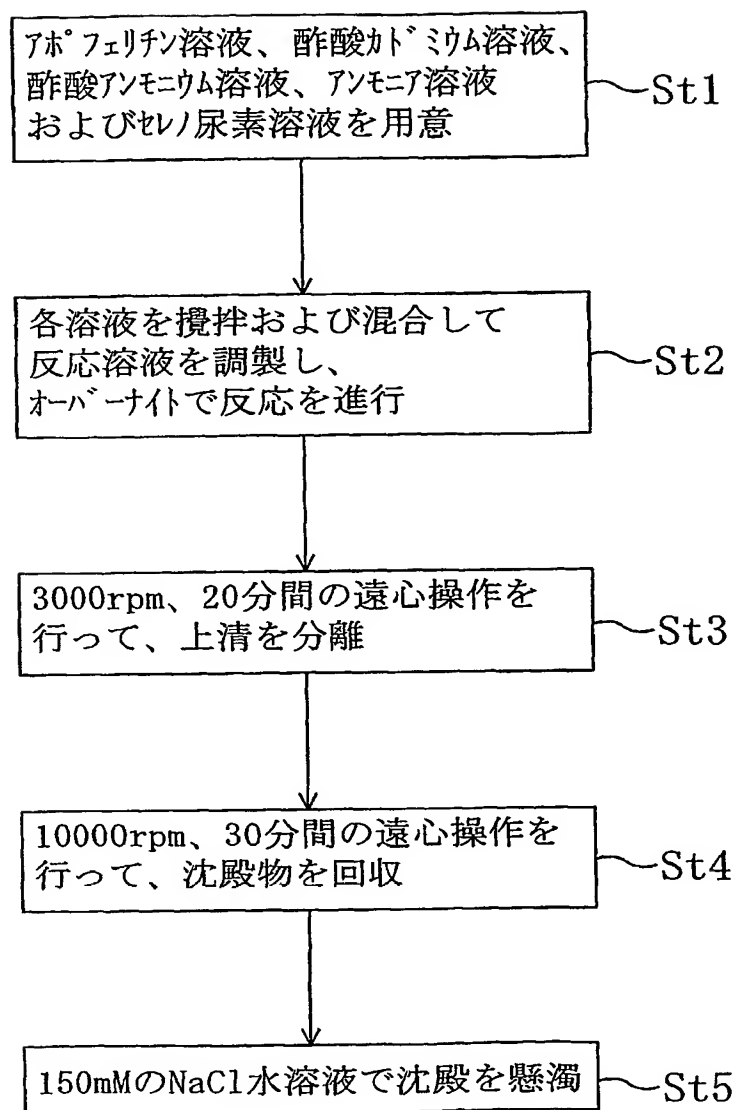
1 6. ナノ粒子とタンパク質からなる複合体であって、請求の範囲第 1 項に記載のナノ粒子の製造方法の製造過程で生成された複合体。

10 1 7. 前記タンパク質は、特定のタンパク質に特異的に結合する部分を備えている請求の範囲第 1 6 項に記載の複合体。

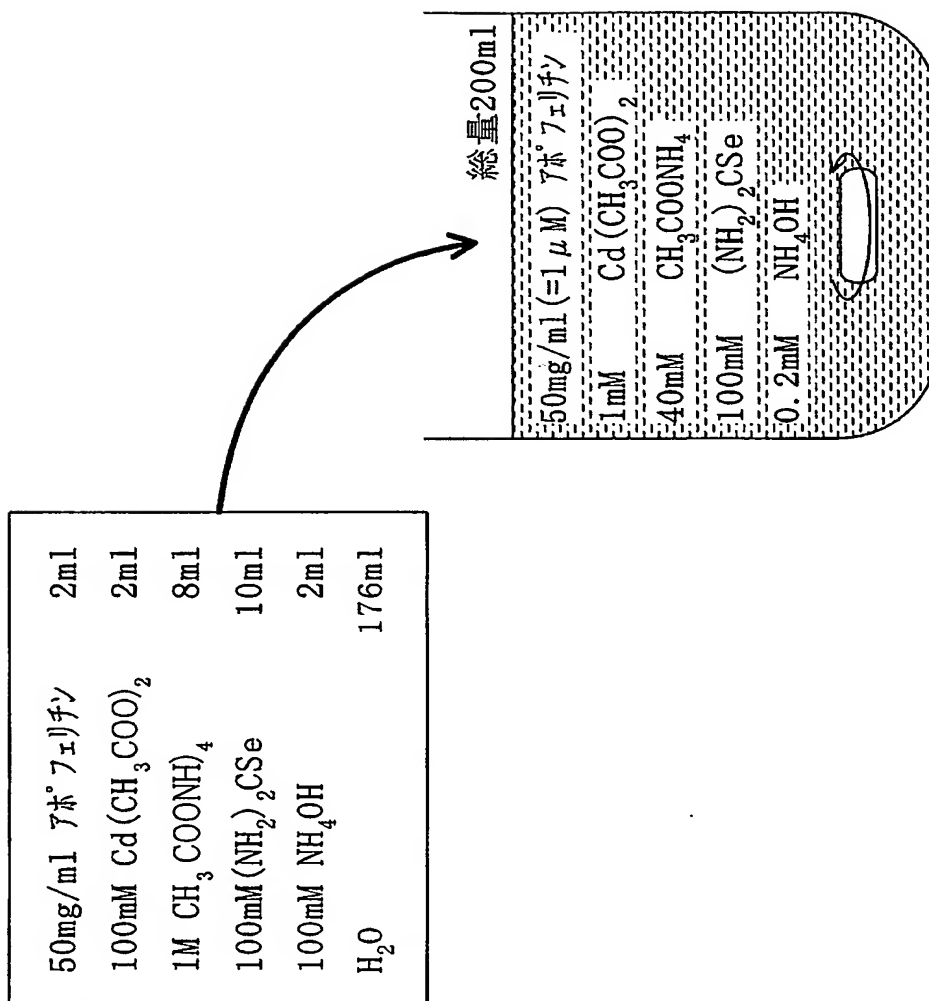
第 1 図



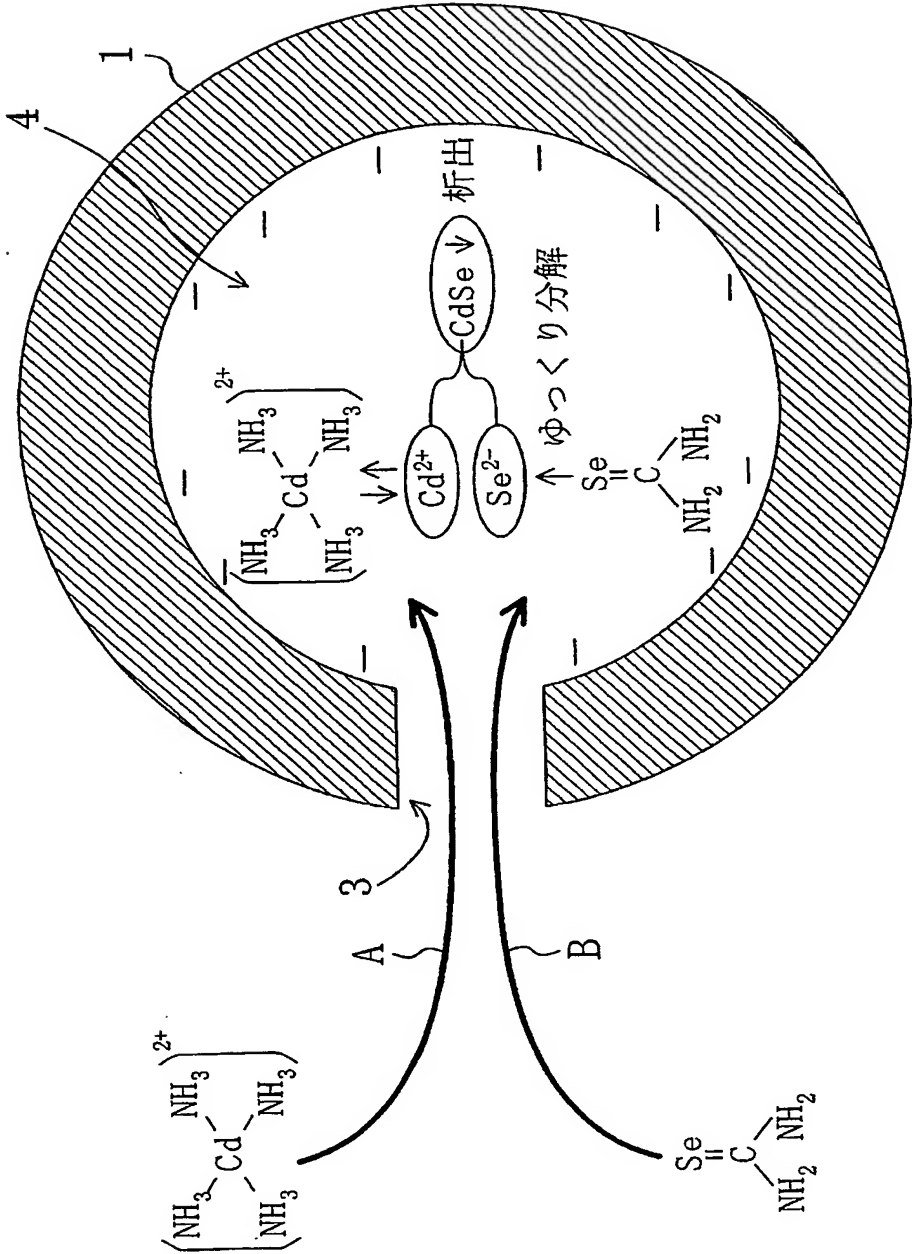
第2図



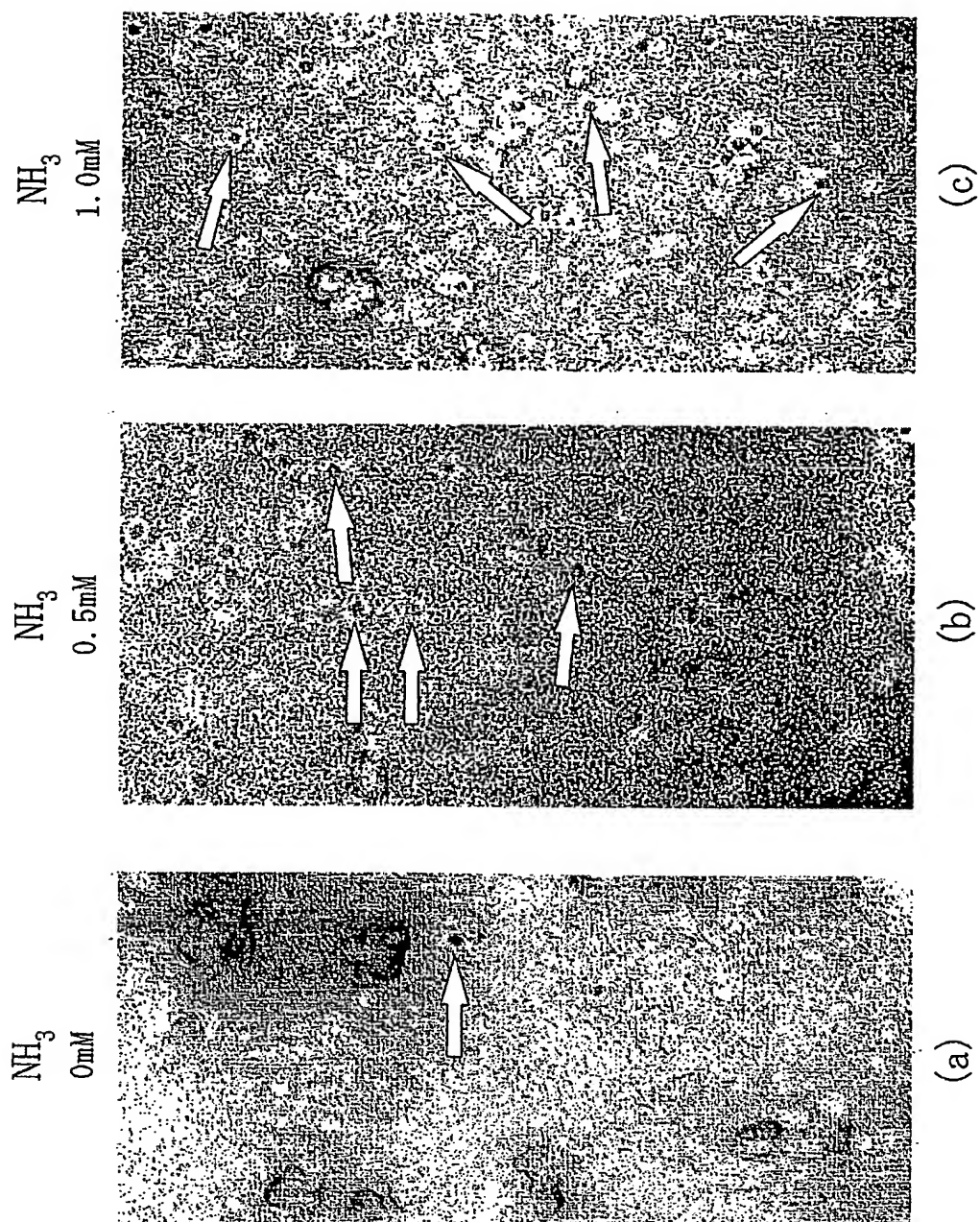
第3図



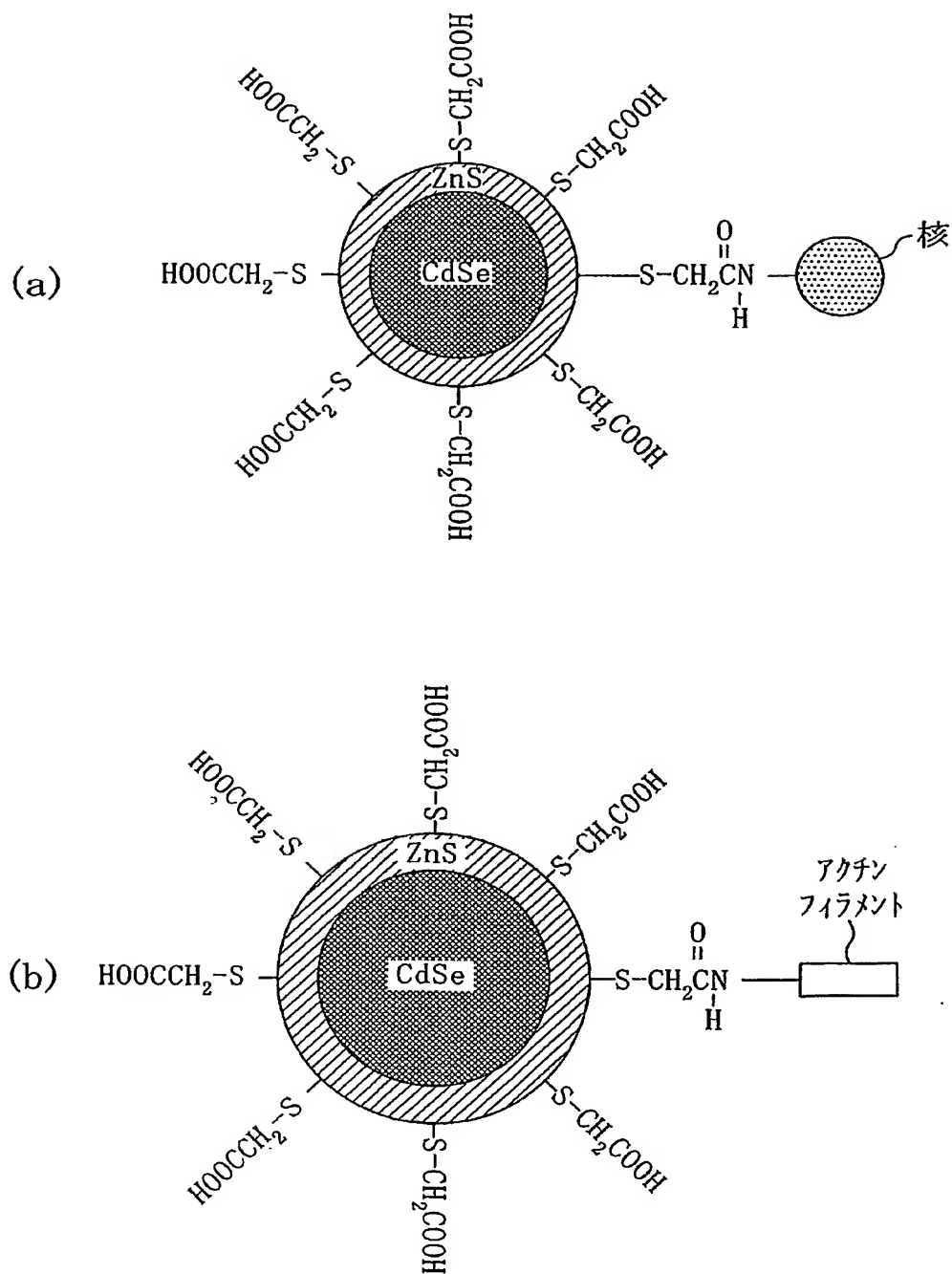
第 4 図



第 5 図

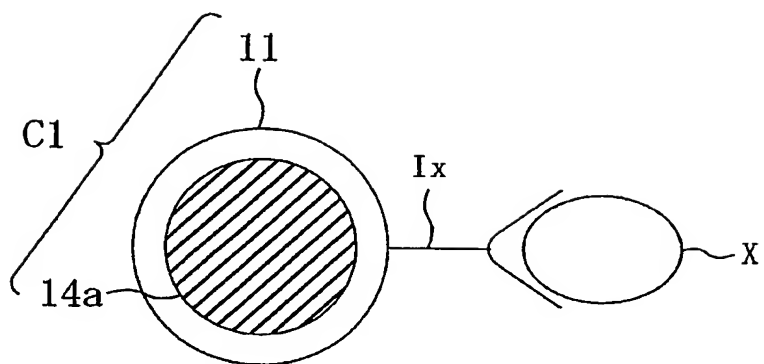


第6図

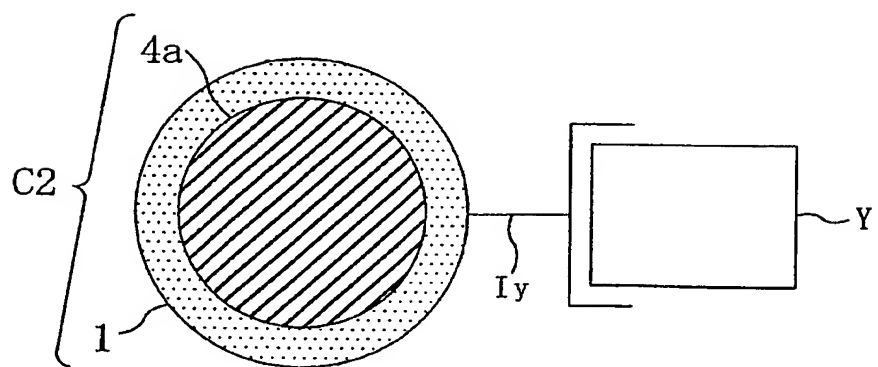


第 7 図

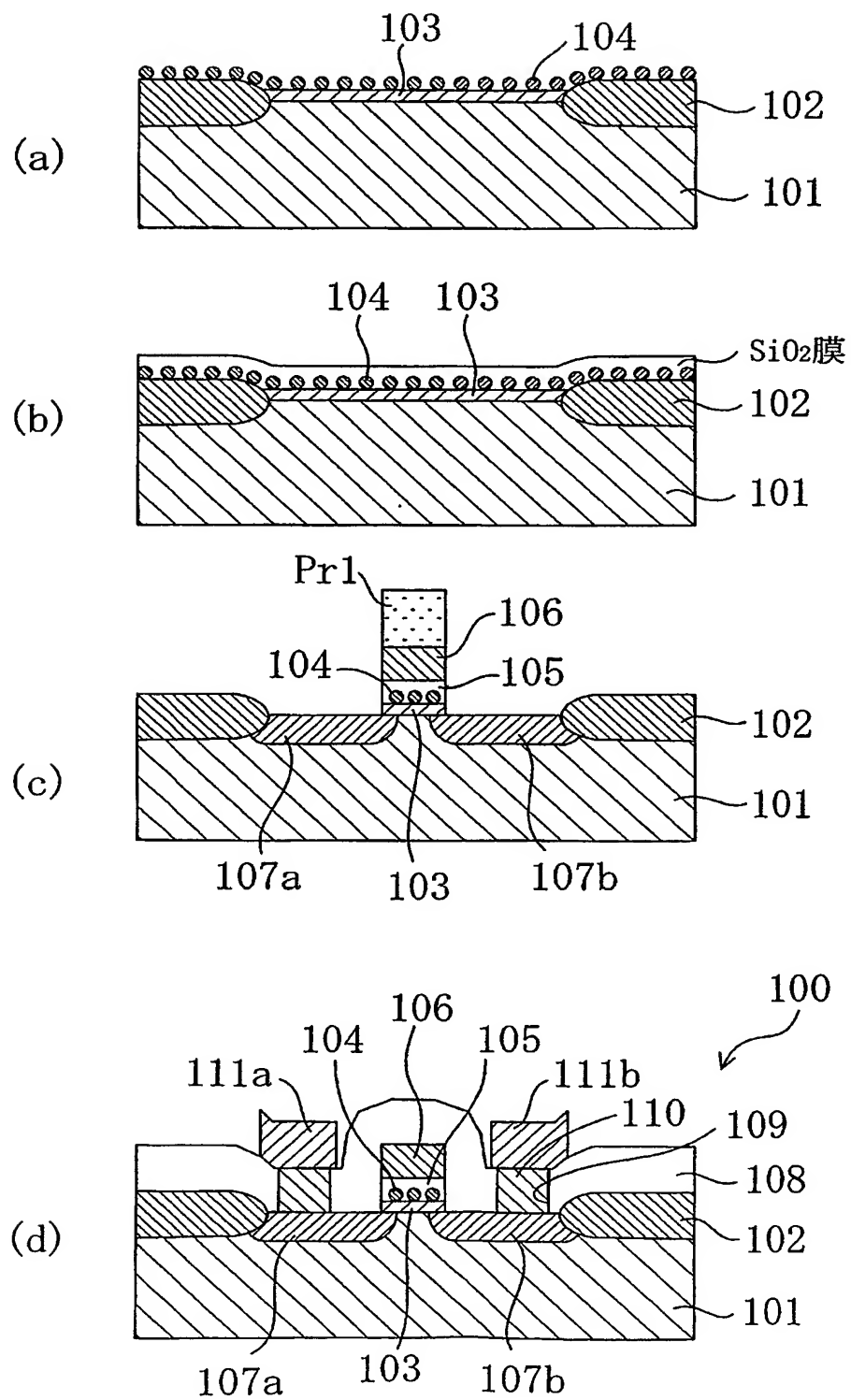
(a)



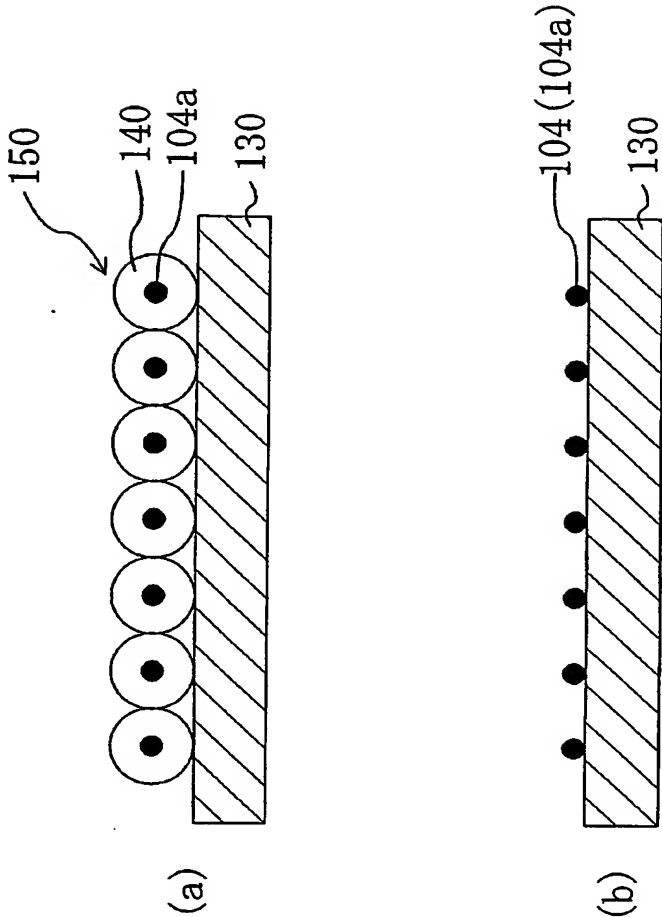
(b)



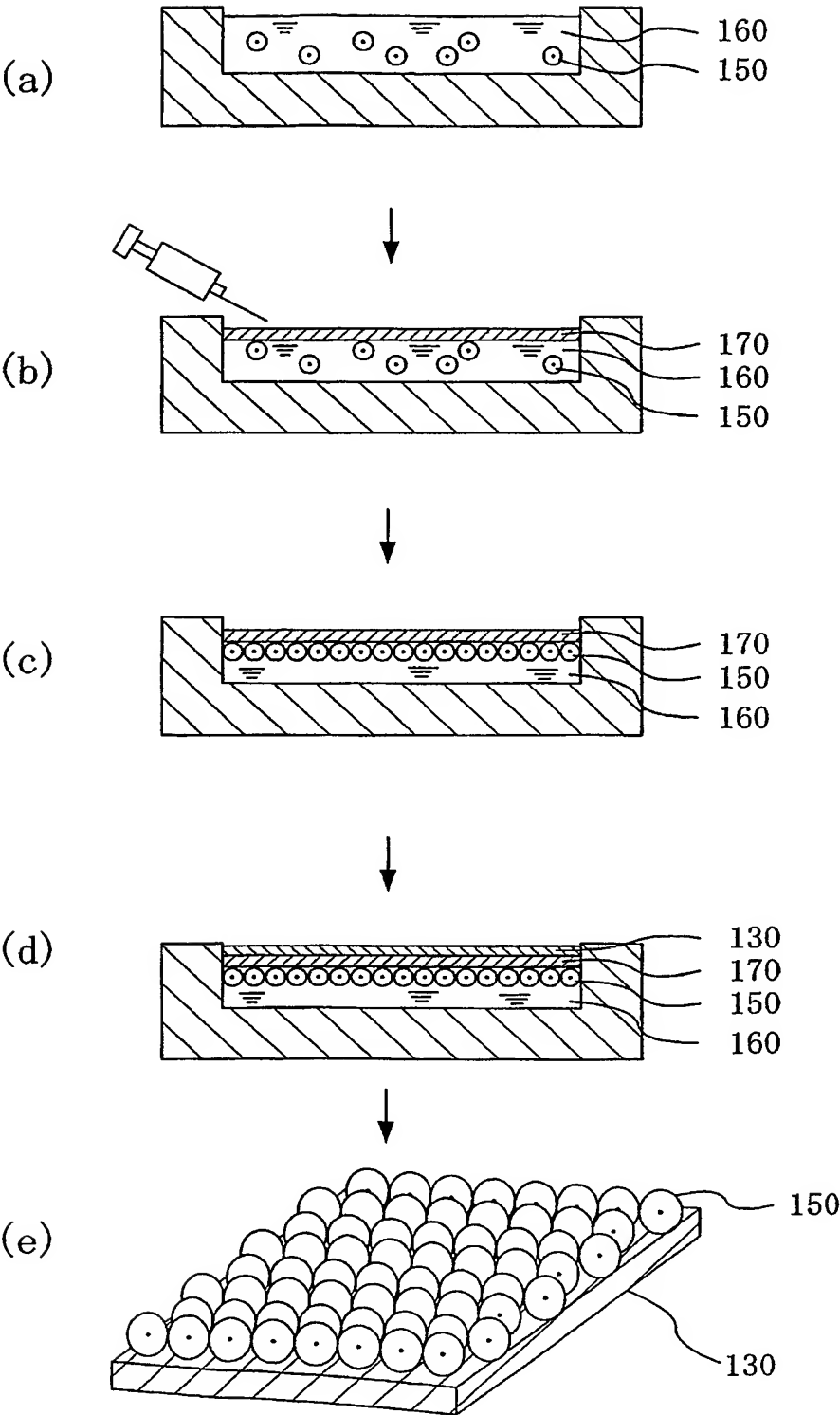
第 8 図



第 9 図



第 10 図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/06637

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ B82B3/00, H01L21/8247, H01L27/115, H01L29/06, H01L29/788, H01L29/792

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ B82B1/00; 3/00, H01L21/8247, H01L27/115, H01L29/06, H01L29/788, H01L29/792

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2003
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2003	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2003

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

Web of Science, 1.((zinc*OR cadmium*)SAME(sulfide*OR selenide*))SAME (ferritin OR apoferritin OR protein*), 2.((ZnS OR ZnSe OR CdS OR CdSe)SAME protein*), 3.((II-VI) AND protein*)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Thin Solid Films, Vol.242, No.1-2, pages 127 to 131, J.Y.Wang et al., "Formation of nanoscale size cadmium sulfide within a channel protein monolayer", 15 April, 1994 (15.04.94), the whole document	1,2,11,12, 15,16
Y		14
X	ADVANCED MATERIALS, Vol.8, No.11, pages 928 to 932, Kim K.W.Wong and Stephen Mann, "Biomimetic Synthesis of Cadmium Sulfide-Ferritin Nano-composites", 1996 November, the whole document	1,2,11-13, 15,16
Y		3,14,17
Y	EP 881691 A2 (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 02 December, 1998 (02.12.98), Column 10, lines 4 to 44 & JP 11-045990 A & US 6121075 A1	14,17

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
30 September, 2003 (30.09.03)

Date of mailing of the international search report
14 October, 2003 (14.10.03)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/06637

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	WO 91/02704 A1 (MONSANTO CO.), 07 March, 1991 (07.03.91), Page 12, lines 29 to 33 & EP 487615 A & JP 04-507255 A	3 4-10

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl ⁷ B82B3/00, H01L21/8247, H01L27/115, H01L29/06, H01L29/788, H01L29/792				
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl ⁷ B82B1/00;3/00, H01L21/8247, H01L27/115, H01L29/06, H01L29/788, H01L29/792				
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2003年 日本国実用新案登録公報 1996-2003年 日本国登録実用新案公報 1994-2003年				
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) Web of Science 1. ((zinc* OR cadmium*) SAME (sulfide* OR selenide*)) SAME (ferritin OR apoferritin OR protein*)), 2. ((ZnS OR ZnSe OR CdS OR CdSe) SAME protein*), 3. ((II-VI) AND protein*)				
C. 関連すると認められる文献				
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号		
X	Thin Solid Films, Vol. 242, No. 1-2, p. 127-131 J.Y.Wang et.al., "Formation of nanoscale size cadmium sulfid e within a channel protein monolayer", 1994. 04. 15 the whole document	1, 2, 11, 12, 15, 16		
Y		14		
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。				
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top; border: none;"> * 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願 </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top; border: none;"> の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献 </td> </tr> </table>			* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 <div style="text-align: right;">30. 09. 03</div>		国際調査報告の発送日 <div style="text-align: right; font-size: 1.2em;">14.10. 03</div>		
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 佐藤 秀樹 <div style="text-align: right;">電話番号 03-3581-1101 内線 6480</div>		

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	ADVANCED MATERIALS, Vol. 8, No. 11, p. 928-932, Kim K. W. Wong and Stephen Mann, "Biomimetic Synthesis of Cadmium Sulfide-Ferritin Nanocomposites" 1996. 11, the whole document	1, 2, 11-13, 15, 16
Y		3, 14, 17
Y	EP 881691 A2 (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.) 1998. 12. 02, col. 10, lines 4-44, & JP 11-045990 A & US 6121075 A1	14, 17
Y	WO 91/02704 A1 (MONSANTO COMPANY) 1991. 03. 07, p. 12 lines 29-33, & EP 487615 A & JP 04-507255 A	3
A		4-10